

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 58-210034

(43)Date of publication of application : 07.12.1983

---

(51)Int.Cl. C07C 33/02

C07C 29/74

C07C 67/00

C07C 69/007

C08F 8/12

---

(21)Application number : 57-093432 (71)Applicant : KURARAY CO LTD

(22)Date of filing : 31.05.1982 (72)Inventor : KINUHATA KOICHI  
TAKIGAWA TETSUO  
OKADA MASAFUMI  
MIZUNO MASAO  
NISHIDA TAKUJI

---

(54) PREPARATION OF POLYPRENYL COMPOUND

$$\text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \quad \text{H}_2\text{C}=\text{CH} \quad \text{I}$$
$$\text{CH}_3-\text{C}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{H}}{\text{C}}-(\text{CH}_2)_2-\underset{\text{H}}{\text{C}}-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{A}$$
$$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{CH}_3 - \text{C} - \text{CH}_2 \\ | \\ \text{CH}_3 \end{array}$$
$$\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{OH}}{\text{C}}}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$$
$$\text{CH}_3-\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_2-\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_2-\overset{\text{H}_3\text{C}}{\underset{\text{H}_3\text{C}}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Z}$$

**CONSTITUTION:** An extract, obtained by extracting a leaf of a gymnosperm, e.g. a plant of the family Pinaceae or Taxodiaceae with an organic solvent, preferably a fat-soluble solvent having

≤20.7 dielectric constant, and containing a polyprenyl compound of formula I (formula II is the trans-type isoprene unit; formula III is the cis-type isoprene unit; n is an integer 10W19; A is OH or acetoxy) is saponified to separate a polyprenol of formula IV (Z is OH or acyloxy), which is if necessary purified by the esterification, and returned to the compound of formula II. The organic layers of the reaction solutions in the respective stages are brought into contact with an aqueous solution of an acid having 0.1W2.5 pH and separated into the organic layer and aqueous layer to separate the aimed compound from the organic layer.

⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭58—210034

⑪ Int. Cl.<sup>3</sup>  
C 07 C 33/02  
29/74  
67/00  
69/007  
C 08 F 8/12

識別記号

庁内整理番号  
7457—4H

⑬ 公開 昭和58年(1983)12月7日

発明の数 1  
審査請求 未請求

6556—4H  
7308—4J

(全 12 頁)

⑭ ポリプレニル化合物の製造方法

⑮ 特 願 昭57—93432  
⑯ 出 願 昭57(1982)5月31日  
⑰ 発 明 者 衣幡晃一  
倉敷市酒津1652  
⑱ 発 明 者 滝川哲夫  
倉敷市酒津1660  
⑲ 発 明 者 岡田雅文

倉敷市酒津1625  
⑳ 発 明 者 水野雅夫  
倉敷市下庄335—18  
㉑ 発 明 者 西田卓司  
倉敷市倉敷ハイツ3—9  
㉒ 出 願 人 株式会社クラレ  
倉敷市酒津1621番地  
㉓ 代 理 人 弁理士 本多堅

明 細 書

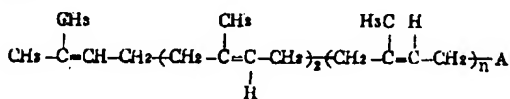
1. 発明の名称

ポリプレニル化合物の製造方法

2. 特許請求の範囲

1. 有機溶媒を用いて植物体から抽出された一

版式

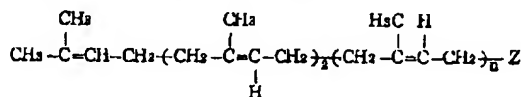


(式中、 $-\text{CH}_2-\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}=\text{C}-\text{CH}_2-$  はトランス型イソプレ

単位を表わし、 $-\text{CH}_2-\overset{\text{H}_3\text{C}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}=\text{C}-\text{CH}_2-$  はシス型イソプレ  
レン単位を表わし、 $n$  は 10～19 の整数を表わ  
し、 $A$  はヒドロキシル基またはアセトキシ基を  
表わす。)

で示されるポリプレニル化合物の少なくとも 1  
種を含有する抽出物をケン化処理したのちポリ  
プレノールを分離し、必要に応じ該ポリプレノ  
ールをポリプレニルエステルに転化し、あるい

はさらに該ポリプレニルエステルをポリプレノ  
ールに戻すことにより一般式



(式中、 $-\text{CH}_2-\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}=\text{C}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\overset{\text{H}_3\text{C}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}=\text{C}-\text{CH}_2-$  および

$n$  は上記定数のとおりであり、 $Z$  はヒドロキシ  
ル基またはアシルオキシ基を表わす。)

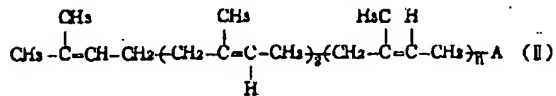
で示されるポリプレニル化合物を製造するに際  
し、上記反応の 1 またはそれ以上において得ら  
れた反応液の有機層を pH 0.1～2.5 の酸水溶液  
で処理したのち有機層と水性層とを分離し、該  
有機層からポリプレニル化合物を回収すること  
を特徴とするポリプレニル化合物の製造方法。

2. 酸が塩酸または硫酸である特許請求の範囲  
第 1 項記載の製造方法。

3. 発明の詳細な説明

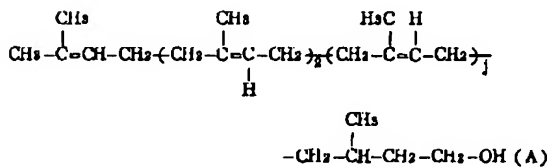
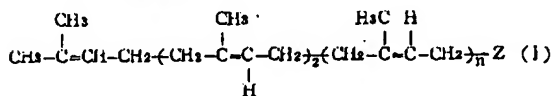
本発明は、ポリプレニル化合物の製造方法に関

する。さらに詳しくは、本発明は、有機溶媒を用いて植物体から抽出された一般式(II)



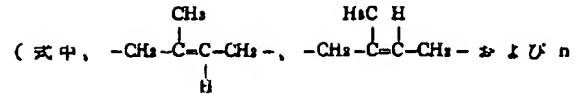
(式中、 $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{C}-\text{CH}_2-$  はトランス型イソプレン単位を表わし、 $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})=\text{C}(\text{H})-\text{CH}_2-$  はシス型イソプレン単位を表わし、 $n$  は10~19の整数を表わし、 $A$  はヒドロキシル基またはアセトキシ基を表わす。)

で示されるポリブレニル化合物の少なくとも1種を含有する抽出物をケン化処理したのちポリブレンオールを分離し、必要に応じて該ポリブレンオールをポリブレニルエステルに転化し、あるいはさらに該ポリブレニルエステルをポリブレンオールに戻すことにより一般式(I)



(式中、 $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{C}-\text{CH}_2-$  はトランス型イソプレン単位を表わし、 $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})=\text{C}(\text{H})-\text{CH}_2-$  はシス型イソプレン単位を表わす。本明細書中において以下同様。)

で示される構造を有するポリブレンオール同族体の混合物であつて、式(A)中のシス型イソプレン単位の数を表わす $j$ は一般に12から18まで分布し、 $j=14, 15$ および16の3種の同族体が主体となつてゐることが明らかにされた(R.W. Keenan et al., Biochemical Journal, 165, 505(1977)参照)。ドリコール類はブタの肝臓のみならず、哺乳動物体内に広く分布しており、生体の生命維持の上で極めて重要な機能を果たしていることが知られている。例えば、J.B. Harford らは子牛やブタの脳内



は上記定義のとおりであり、 $Z$ はヒドロキシル基またはアセトキシ基を表わす。)

で示されるポリブレニル化合物を製造するに際し、上記反応の1またはそれ以上において得られた反応液の有機層をpH 0.1~2.5の炭水溶液で処理したのち有機層と水性層とを分散し、該有機層からポリブレニル化合物を回収することを特徴とするポリブレニル化合物の製造方法に関する。

一般式(I)で示されるポリブレニル化合物は文献未載の新規化合物であつて、たとえば医薬、化粧品などの原料として有用であり、とくに哺乳類ドリコール類の合成中間体として有用である。

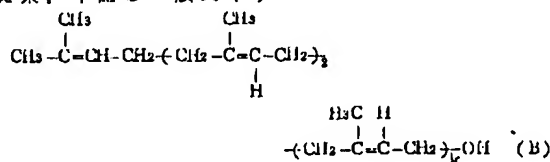
ドリコール類は1960年にJ.F. Pennock らによつてブタの肝臓からはじめて単離され[Nature (London), 186, 470(1960)参照]、のちにこのものは一般式(A)

白脂質を用いるin vitro試験により、外因性ドリコールがマンノースなどの糖成分の脂質への取り込みを促進し、その結果、生体の生命維持のうえで重要な糖蛋白質の形成を増大させる作用を持つことを明らかにしている[Biochemical and Biophysical Research Communication, 76, 1036(1977)参照]。ドリコール類によるかかる脂質への糖成分の取り込み促進効果は成長期の生体におけるよりも既に成熟している動物において顕著であることから、老化防止の点でのドリコール類の働きが注目されている。また、R.W. Keenan らは幼年期などの急速に成長を続けている生体にとつては外からドリコールを摂取し、自己の体内で生合成して得られるドリコールを補うことが重要であると述べている[Archives of Biochemistry and Biophysics, 179, 634(1977)参照]。さらに、赤松らはラットの再生肝中のドリコールリン酸エステルを定量化し、その量が正常な肝中よりも著しく減少しており、肝組織での糖蛋白質の合成機能が大巾に低下していることおよび外からドリコールリン酸エステルを加え

ると該機能が改修されることを見出した〔第54回日本生化学会大会(1981年)において発表〕。

上記のようにドリコール類は生体にとって極めて重要な機能を司る物質であり、医薬品またはその中間体として有用であるが、従来その入手は容易でなく、例えばブタの肝臓10kgから複雑な分離操作を経てやつと0.6gのドリコールが得られるに過ぎない〔F.W. Burgos et al., Biochemical Journal, 88, 470(1963)参照〕。ドリコール類を全合成することは、それらの複雑で特異な分子構造から明らかなように現在の有機合成の技術では至難のことである。合成中間体を天然物に依存し、これに簡単な合成化学的処置を加えるのみでドリコール類を得ることができるならば有利であるが、従来そのような好都合な物質は見出されていない。

従来、下記一般式(b)



れること、該ポリプレニル画分が前記ベツラブレノールタイプの構造を有しシス型イソプレニル単位数が11~19個であるポリプレノール類および/またはそれらのエステル類を主成分とすること、したがって該ポリプレニル化合物群は哺乳類ドリコール類の合成原料として極めて有用であることを見出した。また、カロチノイド、ステロイド、グリセロイド、スフィンゴリピド、フラボノイド、クロロフィルなどの不純物を多量に含有する抽出物から目的とするポリプレニル化合物を簡便に分離精製するには、まず該抽出物をケン化処理後ポリプレノールを分離し、該ポリプレノールをポリプレニルエステルに転化して該エステルの形で精製し、必要に応じて該精製ポリプレニルエステルを再びポリプレノールに戻す方法が有効であることも見出された。

しかしながら、上記のケン化反応またはエステル生成反応の後に通常の操作方法に従って反応液に必要な応じ水と混和しない有機溶媒または/および水を添加して有機層と水性層とに分液し、有

(但し、 $k=4\sim6$ )で示されるポリプレノール類(これらはベツラブレノール類と呼ばれている)がシラカンバ(*Betula verrucosa*)から採取し得ることとは知られているが、これらからシス型イソプレニル単位の数が14, 15および16のものを主成分とするドリコール類を合成することは現在の有機合成技術ではほとんど不可能である。

本発明者らおよびその共同研究者らは、先に、イチヨウ(*Ginkgo biloba*) ; ヒマラヤスギ(*Cedrus deodara*)、アカマツ(*Pinus densiflora*)、クロマツ(*Pinus thunbergii*)などのマツ科植物 ; スギ(*Cryptomeria japonica*)、メタセコイア(*Metasequoia glyptostroboides*)などのスギ科植物 ; ヒノキ(*Chamaecyparis obtusa*)、イブキ(*Juniperus chinensis*)などのヒノキ科植物 ; カヤ(*Torreya nucifera*)などのイチイ科植物などの裸子植物の葉から有機溶媒によつて抽出した抽出物を必要に応じてケン化および/またはエステル化したのち、クロマトグラフィー、分別溶解法その他の適当な分離法によつて処理することにより提純ポリプレニル画分が得ら

れること、該ポリプレニル化合物を回収する際、該有機層および水性層のいずれにも溶解しない浮遊物質が多量に存在することによつて有機層と水性層との間の明瞭な界面の形成が妨げられ、両層の分離が著しく困難になるという現象がしばしば認められた。

本発明者らはこの問題点を解決すべく鋭意検討を重ねた結果、前記反応液の有機層をpH 0.1~2.5の酸水溶液中で処理すればその後の分液操作が著しく容易になることを見出し、本発明を完成するに至つた。

本発明方法において用いる酸としてはたとえば塩酸、硫酸、リン酸などの無機酸、クエン酸、コハク酸、酒石酸などの有機酸を例示することができる。なかでも塩酸および硫酸がよく好適である。使用する酸水溶液中に水に可溶性の有機溶媒たとえばメタノール、エタノール、アセトンなどを適量配合することも可能である。酸水溶液のpHは0.1~2.5の範囲内であることが重要であつて、これよりも大きいpH値の酸水溶液中で処理した

場合には有機層と水性層との層分離を改善する効果に乏しく、また pH 0.1 未満の強酸性の水溶液を用いると被処理有機層中の一般式 (I) で示されるポリプレニル化合物が不都合な反応を起し分解する傾向がある。

本発明に従う酸水溶液処理は、(I) 植物体から得られた前記ポリプレニル化合物含有抽出物のケン化処理後の反応液、(II) 該ケン化反応液から回収された前記ポリプレノールをポリプレニルエステルに転化するためのエステル生成反応後の反応液、および(III) 該ポリプレニルエステルをポリプレノールに戻すための反応後の反応液のいずれの段階の反応液の有機層に対しても行うことができる。好ましくは上記 (I) の反応液またはこれと上記 (II) および/または (III) の反応液の有機層に対して行われる。ただし、酸水溶液処理を複数回行う場合、第 2 回目以降の酸処理は pH 値が 2.5 より大きい弱酸性の水溶液を用いて行なつてもよいことがある。酸水溶液による処理は通常一般に前記反応後の有機層とこれに対して 0.1 ~ 10 倍 (容積)

の pH 0.1 ~ 2.5 の酸水溶液とを約 0 ~ 50 °C 好適には室温またはその近辺の温度においてたとえば攪拌、振とうなどによつて約 1 ~ 30 分間良好な接触状態におくことによつて行われる。この処理の後、有機層と水性層とが分離され、得られた有機層からそれに含まれるポリプレニル化合物が回収される。1 つの反応後の同一有機層について酸水溶液処理とこれに続く分液操作とを 2 回またはそれ以上繰り返して行なつてもよい。

一般式 (I) で示されるポリプレニル化合物の少なくとも 1 種を含有する植物体たとえば前記した裸子植物の葉から該ポリプレニル化合物を抽出するためには脂溶性の有機溶媒が用いられ、かかる脂溶性の有機溶媒としては、一般に誘電定数  $\epsilon$  が 32.7 以下、好ましくは 25.0 以下、さらに好ましくは 20.7 以下のものが好適であり、具体的には下記に例示する溶媒がそれぞれ単独または 2 種もしくはそれ以上の混合溶媒として使用できる。

(a) 炭化水素類：例えば、石油エーテル、ペンタン、ヘキサン、ヘプタン、ベンゼン、トルエ

ン、キシレンなど。

(b) ハロゲン化炭化水素類：例えば、クロホルム、塩化メチレン、四塩化炭素、四塩化エタン、パークロルエチレン、トリクロルエチレンなど。

(c) エステル類：例えば、酢酸メチル、酢酸エチル、プロピオン酸エチルなど。

(d) エーテル類：例えば、ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサンなど。

(e) ケトン類：例えば、アセトン、メチルエチルケトン、ジエチルケトン、ジイソプロピルケトンなど。

(f) アルコール類：例えば、メチルアルコール、エチルアルコール、プロピルアルコール、ブチルアルコールなど。

使用する溶媒の選択にあつては、一般式 (II) のポリプレニル化合物を選択的に高効率で抽出し、それ以外の物質はできるだけ抽出しないのが望ましく、かかる観点からすれば、上記溶媒中、炭

化水素類、ハロゲン化炭化水素類、エステル類、ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテルの如き極性の低いエーテル類およびケトン類が特に好適である。

抽出溶媒の使用量は臨界的なものではなく、用いる溶媒の種類、抽出すべき植物の種類、部位、状態等に応じて広範囲に変えることができるが、一般には抽出に供する植物体 1 直量部 (乾燥重量基準) 当り約 1 ~ 約 100 直量部、好ましくは 5 ~ 50 直量部、さらに好ましくは 10 ~ 30 直量部の範囲内で用いることが有利である。

抽出は上記の溶媒中に植物体を浸漬し、必要に応じて連続的または間欠的に攪拌することにより行なうことができる。抽出時の温度も臨界的なものではなく、用いた溶媒の種類や量等の条件に応じて広範囲に変えることができるが、一般には約 0 °C から溶媒の沸点温度までの温度を用いることができ、通常は室温で充分である。かかる条件下に抽出は普通 1 ~ 10 日間行なうのが有利である。

抽出処理後の浸漬液は植物体その他の固形分を

除去したのち必要に応じて溶媒を除去して濃縮液とする。かくして得られる抽出物をそのままケン化処理に供することができるが、所望により該抽出物を適宜前処理によりある程度精製したのちケン化処理に供することもできる。この前精製には後述する分別溶解法および／またはクロマトグラフィーがとくに好適に用いられる。この前精製によつて炭化水素溶媒（たとえばn-ヘキサン）に不溶な夾雑物および／またはタール分を除去しておくこと後の精製が容易となる。

ケン化処理は、自公知の方法および条件を用いて行うことが可能であり、たとえば含水率約1～20重量部程度の含水メタノールまたは含水エタノール中に水酸化ナトリウムまたは水酸化カリウムを溶解させた溶液（アルカリ金属水酸化物濃度は好ましくは約0.1～30重量部とすることができる）100重量部に対して上記の抽出物を約5～50重量部の割合で加えて約25～90℃で約0.5～5時間反応させればよい。

ケン化処理後、ケン化反応液から一般式(1)に

おいてZ=OHであるポリブレンオールを主成分とする画分（ポリブレンオール画分）を分離回収する。このポリブレンオール画分の分離回収は通常好ましくは次の方法により行われる。すなわち、まずケン化反応液を実質的に水と混和しない有機溶媒で抽出し、有機層と水性層とに分離する。ここで用いられる有機溶媒としては、例えば石油エーテル、ペンタン、ヘキサン、ヘプタン、ベンゼン、トルエン、キシレンなどの炭化水素類、クロロホルム、塩化メチレン、四塩化炭素、四塩化エタン、パークロルエチレン、トリクロルエチレンなどのハロゲン化炭化水素類、酢酸イソプロピル、酢酸ブチル、プロピオン酸エチル、プロピオン酸ブチル、ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、ジノブチルエーテル、メチルイソブチルケトン、ジイソブチルケトンなどを挙げるることができる。これら抽出溶媒の使用量は臨界的ではないが、一般にケン化反応混合物に対して5倍（重量）から100倍（重量）が好適である。この抽出に際し、水は有機層と水性層とが層分離を生じるに必要な

最少量以上存在すればよいが、通常有機層と水性層との容積比が1:10～10:1となるような割合で用いることが好ましい。

この抽出・分離に際し、本発明に従つて上記の水性層をpH 0.1～2.5の酸水溶液とするならば該有機層と水性層との分離が著しく容易となる。

上記のようにして得られる有機層を必要に応じて溶媒を留去した後、クロマトグラフィー、分別溶解法、分子蒸留法またはこれらの方法の2種もしくはそれ以上の組合わせからなる分離工程に付してポリブレンオール画分を回収することができる。

上記分離工程におけるポリブレンオールが含有されている画分の確認は、メルク社製薄層クロマト用プレート（シリカゲル60 F254被覆；層の厚さ0.25mm）を用いかつn-ヘキサンと酢酸エチルとの容積比で9:1の混合溶媒を展開溶媒とする薄層クロマトグラフィー（10cm展開）において標準物質としてのソラネシルアセテートのRf値が0.40～0.45となる条件下に0.18～0.25の展開内のRf値のところにスポットが存在するか否かに

より行なうことができる。しかして、以下の説明において薄層クロマトグラフィーのRf値を言及する場合には、特にことわらない限り、上記条件下に測定した値を意味することを了解すべきである。

上記分離工程において使用しうるクロマトグラフィー、分別溶解法、分別冷凍沈殿法および分子蒸留法の各方法の操作はそれ自公知のものであり、本発明においても公知の方法に準じて行なうことができるので、各方法の詳細については文献の引用を以つて説明に代え、ここには特に注意すべき点のみを記載する。

(A)クロマトグラフィー〔例えば、H. Heftman, "Chromatography", Reinhold Publish Co., New York (1961) 参照〕

抽出物が少量の場合には薄層クロマトグラフィーおよび液体クロマトグラフィーが適当であるが、大量の抽出物の処理にはカラムクロマトグラフィーが好適である。使用しうるクロマトグラフィー用担体としては、シリカゲル、アルミナ、フロリジル、セライト、活性炭、セルロースなどが挙げ

られ、中でもシリカゲルが好適である。

シリカゲルカラムを使用して分離操作を行なう場合の洗脱溶媒としては、例えば、ヘキサン/酢酸エチル(容積比95:5~80:20)、ヘキサン/ジイソプロピルエーテル(容積比95:5~80:20)、石油エーテル/酢酸メチル(容積比95:5~80:20)、石油エーテル/イソプロピルアルコール(容積比99:1~90:10)、ベンゼン/ジエチルエーテル(容積比95:5~80:20)、ベンゼン/酢酸エチル(容積比98:2~80:20)などの混合溶媒系あるいはクロロホルム、メチレンクロリドなどが挙げられる。

(B)分別溶解法〔例えば、L.C.Craig, "Technique of Organic Chemistry", Vol. 13, Interscience, (1951) 参照〕

前記一般式(1)のポリブレノールはペンタン、ヘキサンのような非極性溶媒に易溶であり、一方、メタノールや水などの極性溶媒には難溶であるので、前記抽出液を抽出物を上記非極性溶媒に溶解し、ついで該非極性溶媒と非混和性の極性溶媒で洗浄

することによつて、極性溶媒に易溶な不純物を大幅に除去することができる。本方法で好適に使用される非極性溶媒としては、例えば、石油エーテル、ペンタン、ヘキサン、ヘプタン、ベンゼン、トルエンなどの炭化水素系溶媒およびメチレンクロリド、クロロホルムなどのハロゲン化炭化水素系溶媒が好適である。また、かかる非極性溶媒と非混和性の極性溶媒としては例えば水あるいはメタノールが好適である。

(C)分別冷凍沈殿法〔例えば、E.W.Berg, "Physical and Chemical Methods of Separation" Chapter 14, 15, McGraw-Hill, New York (1963) 参照〕

前記一般式(1)のポリブレノールは約 $-10^{\circ}\text{C}$ 以下で固化する。従つて、抽出物を $-10^{\circ}\text{C}$ 以下、好ましくは約 $-15^{\circ}\text{C}$ ~約 $-30^{\circ}\text{C}$ に冷却下に放置し、目的物を固化させたのち固-液分離することによつて、かかる温度で固化しない不純物から精製することができる。しかしながら、該ポリブレノールはあまり優れた結晶性を有さず、ワックス状固体となるため、本方法により完全に精製すること

は難しい。なお、逆にポリブレノール中に存在する結晶性の不純物を優先的に析出させて除去することも可能である。

(D)分子蒸留法〔例えば、G.Durrows, "Molecular Distillation", Clarendon Press, Oxford (1960) 参照〕

前記一般式(1)のポリブレノールは分子量が大きいので、分子蒸留法を用いることによつて低分子量の不純物を除去することができる。例えば $10^{-3}$ ~ $10^{-5}$ mmHgの真空度において $100\sim 200^{\circ}\text{C}$ の加熱条件下に分子蒸留して、低分子留分と高分子留分とに分断される。このとき、高分子留分に目的物質は保持され、低分子量不純物を大幅に除去することができる。

これら分離法の2種もしくはそれ以上の組合せを用いることもできる。例えば、クロマトグラフィーと分別溶解法；クロマトグラフィーと分別冷凍沈殿法と分別溶解法；クロマトグラフィーと分別冷凍沈殿法と分別溶解法と分子蒸留法；クロマトグラフィーと分子蒸留法と分別溶解法；クロ

マトグラフィーと分子蒸留法；分子蒸留法と分別溶解法；分子蒸留法と分別溶解法と分別冷凍沈殿法などの組合せを用いることができる。

好ましい実施態様の1つにおいては、前記ケン化処理後有機溶媒で抽出された抽出物をカラムクロマトグラフィーを主体とした分離精製法によつて処理することにより、前記薄層クロマトグラフィーにおいてRf値が0.18~0.25となる画分(ポリブレノール画分)を分離取得する。かくして得られるポリブレノール画分を一旦ポリブレニルエステルに転化し、該ポリブレニルエステルの形で精製すると簡単な操作で容易に高純度に精製することができる。ポリブレノールをポリブレニルエステルに転化するためには、ポリブレノールを酢酸、プロピオン酸、酪酸、吉草酸などの低級脂肪酸モノカルボン酸またはそれらの反応性誘導体例えば無水酢酸のごとき無水物またはアセチルクロリドのごとき酸ハライドとエステル化反応させ、あるいはポリブレノールを酢酸メチル、酢酸エチル、プロピオン酸メチルなどの低級脂肪酸モノカ



ルガン酸低級アルキルエステルとエステル交換反応させればよい。これらエステル化反応およびエステル交換反応は自体公知の方法および条件を用いて行うことができる。たとえばエステル化反応は次のようにして行うことができる。すなわちポリブレンオール画分とこれに含まれるポリブレンオール1モルあたり約0.8~1.0モル、好ましくは1~5モルの前記酸無水物または酸ハライドとを好ましくはペンタン、ヘキサン、ベンゼン、トルエン、ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテルなどの適当な溶媒の存在下、ピリジン、トリエチルアミンなどの適当な塩基の存在下に約-30~+80℃、好ましくは0~30℃で反応させればよい。また、エステル交換反応はたとえば次のようにして行うことができる。すなわち前記のごとき低級脂肪族モノカルボン酸の低級アルキルエステルとポリブレンオールとを溶媒の存在下または無溶媒で、水素化ナトリウム、水素化カリウムなどの適当なエステル交換触媒の存在下に50~200℃、好ましくは80~150℃で反応させればよい。

精製されたポリブレンエステルは、必要に応じて、加水分解によつて再びポリブレンオールに転化される。この加水分解反応は公知の高級アルコールのエステル類を加水分解するために有用であることが知られている種々の方法により行うことができる。好適には、ポリブレンエステルをメタノール、エタノール、イソプロパノールなどのアルコール中でポリブレンエステル1モルあたり約1~10モルのアルカリ金属水酸化物とくに水酸化ナトリウムまたは水酸化カリウムと共に加熱撹拌することによつて実施される。別法としてポリブレンエステルをジエチルエーテル、テトラヒドロフランなどの溶媒中でポリブレンエステルに対して0.25~5.0モル当量の水素化アルミニウムリチウムと共に加熱またはその近傍の温度で反応させることによつてもポリブレンオールに転化することができる。

これらの反応後、反応液から有機層を分離し、水洗、乾燥および蒸餾などの簡単な後処理を行うことにより一般式(1)で示されるポリブレンオール

これらのエステル生成反応により得られた反応液の有機層を本発明に従つてpH 0.1~2.5の酸水溶液で処理するならば、該有機層と水性層との層分離は著しく容易であり、酸水溶液に可溶性成分を除去された有機層が得られる。

このようにして得られた有機層に含まれるポリブレンエステルを精製するには先に述べたクロマトグラフィー、分別溶解法、分別冷凍沈殿法、分子蒸留法などを単独でまたは2種以上組合わせて用いることができるが、クロマトグラフィーの使用がとくに好適である。クロマトグラフィーの好ましい実施態様はポリブレンオール画分を得るために用いる分離方法に関して前記したものと同様である。大量のポリブレンエステルを精製するには、たとえばシリカゲルカラムおよび展開溶媒としてたとえばヘキサン/酢酸エチル(容量比99:1~90:10)、ヘキサン/ジイソプロピルエーテル(容量比99:1~90:10)などを用いてカラムクロマトグラフィーにより精製するのが簡便であり、とくに好ましい。

を回収することができる。上記反応液からの有機層の分離が困難な場合には該有機層をpH 0.1~2.5の酸水溶液で処理することにより有機層と水性層との分離は著しく容易になる。

かくして得られたポリブレンオールがその同族体混合物である場合、所望によりさらに例えば分配型高速液体クロマトグラフィーによつて個々の同族体成分を分取することもできる。このようにして得られるポリブレンオールまたはそれらの混合物はクロロフィル、カロチノイド、ステロイド、グリセリド、スフィンゴリピド、フラボノイドなどの着色性不純物をほとんど含有せず、たとえば哺乳類ドリコール酸の合成中間体として使用するのに好適である。

以下、本発明を実施例によりさらに詳しく説明する。なお、実施例中のIR分析は液膜で測定し、NMR分析はTMSを内部標準として測定した。FD-MASS分析(電界電離法質量分析)の値は $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{18}\text{O}$ として補正した値である。

## 実施例 1

11月初旬に倉敷市内で採取したイナゴの糞10kg(未乾燥重量)を約50℃で5時間熱風乾燥したのち室温(約10℃)でn-ヘキサン/アセトン=4/1(容量比)の混合溶媒80L中に浸漬して1週間抽出した。この抽出液から溶媒を留去し黒かつ色の液状物を得た。このものをメタノール400ml、水40mlおよび水酸化ナトリウム25gと共に2時間65℃に加熱撹拌したのち、室温に冷却し、ヘキサン(500ml)を加えて抽出し、水性層のpHを調べながら3重量%塩酸水溶液を加えて水性層のpHを約2に調整し、約2分間よく振とうしたのちヘキサン層と水性層とを分離し、ヘキサン層を約100mlの飽和食塩水で3回水洗したのち無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を留去して黒かつ色の液状物を得た。ついでこの液状物を約1kgのシリカゲルを用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーによりn-ヘキサン/酢酸エチル=95/5(容量比)の混合溶媒を用いて処理することにより、n-ヘキサン/酢酸エチル=9/1

(容量比)の混合溶媒を用いたシリカゲル薄層クロマトグラフィー〔メルク社製TLC plate(silica gel 60F554 precoated 層厚0.25mm)を使用して10cm展開〕において $R_f = 0.21$ となる面分を分離して21.5gの赤かつ色の液状物を得た。この薄層クロマトグラフィーにおいてソラネシルアセナートは0.4:1の $R_f$ 値を示した。

次いでこの液状物をピリジン20g、n-ヘキサン300ml中に溶解し、室温で撹拌しながら無水酢酸25gを滴下し、滴下完了後、一夜室温で撹拌した。得られた反応混合物にpH約1.0の塩酸水溶液100mlを加えて約2分間振とうしたのち有機層と水性層とを分離した。有機層と水性層との層分離性は良好であつて、両層間に明瞭な界面が形成され、両層の分離操作は極めて容易であつた。得られた有機層を飽和食塩水約100mlで3回洗浄した。このときの有機層と水性層との層分離性は良好であつた。(なお、比較のため前記塩酸水溶液処理を行わなかつた場合には、水洗のため水を添加して振とうしたところ有機層と水性層の間にま

たがって浮遊物が多量に生じ、層分離は極めて不良であつた。)飽和食塩水による洗浄後の有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、n-ヘキサンを留去して赤かつ色の液状物を得た。この液状物を約1kgのシリカゲルを用いたシリカゲルカラムによりn-ヘキサン/酢酸エチル=97/3(容量比)の混合溶媒を用いて処理することにより、前記と同様のシリカゲル薄層クロマトグラフィーにおいて $R_f = 0.53$ となる面分を分離して黄色液状物17.5gを得た。このものはIR分析、 $^1\text{H-NMR}$ 分析ならびにFD-MASS分析の結果、一般式(1)において $Z = \text{OCOCH}_3$ であるポリブレンルアセナートを主成分とするものであることが確認された。

次いでこの液状物をメタノール200ml、水20mlおよび水酸化ナトリウム5gと共に2時間65℃で加熱撹拌したのち室温に冷却し、n-ヘキサン約500mlを加えて振とう後、静置するとヘキサン層と水性層との層分離性はかなり良好であつたが両層の界面付近に少量の浮遊物が認められた。この混合物にさらに3重量%塩酸水溶液を加えて水

性層をpH約2に調整し、約1分間振とう後静置するともはや浮遊物は認められなかつた。ヘキサン層と水性層とを分離し、得られたヘキサン層を約100mlの飽和食塩水で3回洗浄したのち無水硫酸マグネシウムで乾燥し、n-ヘキサンを留去して淡黄色液状物を得た。この液状物を約1kgのシリカゲルを用いたシリカゲルカラムによりn-ヘキサン/酢酸エチル=95/5(容量比)の混合溶媒を用いて処理することにより、前記と同様のシリカゲル薄層クロマトグラフィーにおいて $R_f = 0.21$ となる面分を分離して16.3gの淡黄色液状物を得た。

この淡黄色液状物をシリカゲル $\mu$ -Porasylを充填剤としn-ヘキサン/酢酸エチル=97/3(容量比)の混合溶媒を展開液として用いた吸着型高速液体クロマトグラフィーおよびシリカゲル $\mu$ -Bondapak-C18を充填剤としアセトン/メタノール=70/30(容量比)の混合溶媒を展開液として用いた分配型高速液体クロマトグラフィーによる分析を行なつた結果、目的とする一般式(1)で示

されるポリブレンオール以外のピークは殆んど検出されず、99%以上の純度を有することが確認された。

また、メルク社製セミ分取用高速液体クロマトカラム LiChrosorb RP 18-10 を用いアセトン/メタノール = 90/10 (容積比) の混合溶媒を展開液とし、示差屈折計を検出器として用いた高速液体クロマトグラフィー分析を行い、得られたクロマトグラムにおける各ピークの面積比率を求めた結果は下記のとおりであつた。

ピーク番号	シス型イソブレン単位数(n)	面積比率(%)
1	11	0.3
2	12	1.0
3	13	6.0
4	14	25.4
5	15	39.5
6	16	19.1
7	17	6.2
8	18	1.7
9	19	0.8

この高速液体クロマトグラフィーを用いて上記の油状物から各成分を分取し、質量分析、赤外線吸収スペクトル、 $^1\text{H}$ -NMR スペクトルおよび  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルによりそれらの成分が一般式(1)で示される構造を有するポリブレンオールであることを確認した。

各成分についての FD-MASS の結果ならびに  $^1\text{H}$ -NMR の  $\delta$  値を表 1 に、 $^{13}\text{C}$ -NMR の  $\delta$  値を表 2 にまとめて示した。

表

1

n の値 (シス型イソブレン単位の数)	FD-MASS (m/e)		$^1\text{H}$ -NMR $\delta$ (ppm)						
	実験値	計算値	$-\text{CHCH}_2\text{OH}$	$-\text{CH}-$	$-\text{CH}_2\text{OH}$	$-\text{CH}_2-$	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ -\text{CH}_3 \quad \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ -\text{CH}_3 \quad \text{CH}_2- \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_2- \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ -\text{CH}_2 \quad \text{H} \end{array}$
11	970	970	5.44 (t)	5.13 (b)	4.08 (d)	2.04 (b)	1.74	1.68	1.60
12	1038	1038	5.44 (t)	5.12 (b)	4.08 (d)	2.04 (b)	1.74	1.68	1.60
13	1106	1106	5.43 (t)	5.12 (b)	4.08 (d)	2.04 (b)	1.74	1.68	1.60
14	1174	1174	5.44 (t)	5.12 (b)	4.08 (d)	2.04 (b)	1.74	1.68	1.60
15	1242	1242	5.44 (t)	5.13 (b)	4.08 (d)	2.04 (b)	1.74	1.68	1.60
16	1310	1310	5.44 (t)	5.14 (b)	4.08 (d)	2.04 (b)	1.74	1.68	1.60
17	1378	1378	5.44 (t)	5.13 (b)	4.08 (d)	2.04 (b)	1.74	1.68	1.60
18	1446	1446	5.43 (t)	5.13 (b)	4.08 (d)	2.04 (b)	1.74	1.68	1.60
19	1514	1514	5.44 (t)	5.13 (b)	4.08 (d)	2.04 (b)	1.74	1.68	1.60

(注)  $^1\text{H}$ -NMR データ中、(t)は三重シグナル、(b)は二重シグナル、(d)は三重シグナルを意味する。

n の値 (シス型イソプレレン 単位の数)	<sup>13</sup> C - N M R δ (ppm)										
11	135.17	125.09	59.00	39.77	32.27	32.04	26.47	23.42	25.67	17.64	15.98
12	135.17	125.10	58.99	39.78	32.28	32.05	26.47	23.42	25.66	17.64	15.98
13	135.16	125.08	58.99	39.78	32.27	32.05	26.48	23.42	25.67	17.65	15.99
14	135.17	125.09	59.00	39.77	32.27	32.04	26.47	23.42	25.66	17.64	15.97
15	135.15	125.12	58.99	39.78	32.29	32.05	26.49	23.42	25.65	17.65	15.99
16	135.15	125.11	58.98	39.77	32.28	32.05	26.49	23.42	25.65	17.64	15.98
17	135.15	125.12	59.00	39.77	32.29	32.05	26.49	23.41	25.66	17.65	15.99
18	135.16	125.10	58.98	39.77	32.29	32.05	26.48	23.41	25.64	17.64	15.99
19	135.15	125.10	58.98	39.78	32.28	32.05	26.49	23.42	25.65	17.65	15.98

## 実施例 2 ～ 3 および比較例 1 ～ 2

10 月末に倉敷市内で採取したイチヨウの葉 10 kg (未乾燥重量) を約 40℃ で 24 時間熱風乾燥したのち室温 (約 15℃) でクロロホルム 80 L 中に 1 週間浸漬して抽出した。この抽出液からクロロホルムを留去して得た濃縮物中に石油エーテル 5 L を加えて不溶性成分を分別し、母液を濃縮後クロロホルムを抽出溶剤として用いてシリカゲルカラムにより分離し約 3.4 g の油状物を得た。この油状物にアセトン約 400 ml を加えてアセトン可溶性成分を溶解し、得られた混合物をろ過し、母液を濃縮し、得られた油状物 (3.1 g) の各 7 g をメタノール 100 ml、水 10 ml および水酸化ナトリウム 4 g とともに 65℃ に 2 時間加熱撹拌した。ついで室温に冷却し、減圧下に濃縮し、ジエチルエーテル 150 ml を加え、さらに塩酸水溶液を加えて水性脂の pH を表 3 に記載の所定値に調整し、約 2 分間はよく振とうしたのち有機層と水性層とを分けた。このときの層分離性は表 3 に記載したとおりであった。また、上記酸水溶液処理に対するポ

リブレノールの安定性を調べるため該処理後の有機層について IR 分析を行なった結果は表 3 に記載のとおりであった。

実施例 2 および 3 においては上記の有機層を約 100 ml の飽和食塩水で 3 回洗浄したのち約 350 g のシリカゲルを用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィー [ n -ヘキサン/イソプロピルエーテル = 90/10 (容置比) の混合溶媒を使用 ] により分離精製して実施例 1 におけると同様のポリブレノール同族体混合物 (純度 90 % 以上) をそれぞれ 4.4 g (実施例 2) および 4.3 g (実施例 3) 得た。

表 3

	水性脂の pH	層分離性	IR 分析結果
比較例 1	0.01	良	ポリブレノールの OH 基に起因する吸収が消失した
実施例 2	0.5	良	ポリブレノールの OH 基に起因する吸収が観察された
実施例 3	2.0	良	同 上
比較例 2	5.0	不良 (浮遊物が多い) が生じた。	同 上

## 実施例 4

4月下旬に倉敷市内で採取したヒマラヤスギの葉10kg(未乾燥重量)を約40℃で24時間熱風乾燥したのち室温(約15℃)でクロロホルム80L中に浸漬して抽出した。この抽出液からクロロホルムを留去して得た濃縮物中に石油エーテル5Lを加えて不溶性成分を分別し、母液を濃縮後クロロホルムを脱脂溶媒として用いてシリカゲルカラムにより分離し、n-ヘキサン/酢酸エチル=9/1(容量比)の混合溶媒を用いたシリカゲル薄層クロマトグラフィー(メルク社製薄層クロマト用プレート(シリカゲル60 F254 被覆; 層の厚さ0.25mm)を使用し、10cm展開)においてRf値0.52を示す画分として約29gの油状物を得た。なお、上記薄層クロマトグラフィーにおいてソラネシルアセテートはRf値0.41を示した。この油状物にアセトン約400mlを加えてアセトン可溶性成分を溶解し、得られた混合物をろ過し、母液を濃縮し、得られた油状物をメタノール400ml、水40mlおよび水酸化ナトリウム20gと共に2時間65

℃に加熱したのちメタノールを留去し、残留物にジエチルエーテル(500ml)を加え、さらに1重量%塩酸水溶液を加えて水性層のpHを約1.5に調節し、約5分間よく振とうしたのちエーテル層と水性層とを分けた。このときの層分離性は良好であつた。(なお、比較のため塩酸水溶液処理を行わない場合にはエーテル層と水性層との両層にわたつて多数の浮遊物が生じ、層分離性は不良であつた。)分離したエーテル層を約100mlの水で3回洗浄したあと無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を留去して23.2gの油状物を得た。ついで、この油状物を約1kgのシリカゲルおよびn-ヘキサン/ジイソプロピルエーテル=90/10(容量比)の混合液を用いて分離し、上記の薄層クロマトグラフィーにおいてRf値0.19を示す画分として22.1gの油状物を得た。この油状物は90%以上の純度を有するポリブレンオールであり、このものについて実施例1と同様の方法で測定した分子量分布は下記のとおりであつた。

n の値	面積比率(%)
11	0.76
12	2.06
13	7.00
14	24.32
15	38.54
16	19.22
17	5.19
18	1.39
19	0.54

実施例1と同様に高速液体クロマトグラフィーを用いて上記の油状物から各成分を分取し、質量分析、IR分析、NMR分析を行なった結果、それらの成分は一般式(1)においてZ=OHであるポリブレンオールであることが確認された。

なお、前記1%塩酸水溶液にかえて3%塩酸水溶液または10重量%濃度のクエン酸水溶液を用いて水性層のpHを約2.0に調整した場合にも同様に層分離性は著しく改善され、前記と同様の結果が得られた。

## 実施例 5

12月上旬に倉敷市内で採取したアカマツの葉10kg(未乾燥重量)を約50℃で24時間熱風乾燥したのち室温(約10℃)でクロロホルム中に1週間浸漬して抽出した。この抽出液を実施例4と同様に処理した(ただし、1%塩酸水溶液にかえて3%塩酸水溶液を用いた)ところ、ケン化後の有機層の酸水溶液処理による層分離性改善効果は顕著であり、最終精製物として純度90%以上のポリブレンオール4.3gを得た。このものについて実施例1と同様の方法で測定した分子量分布は下記のとおりであつた。

n の値	面積比率(%)
10	2.4
11	3.0
12	9.9
13	32.2
14	34.3
15	11.5
16	2.5
17	2.2
18	1.6

実施例1と同様に高速液体クロマトグラフィーを用いて上記の油状物から各成分を分取し、質量分析、IR分析、NMR分析を行なった結果、それらの成分は一般式(1)においてZ=OHであるポリブレンオールであることが確認された。

特許出願人 株式会社 ク ラ レ  
代 理 人 弁 理 士 本 多 盛

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**